성선 이형성 환자 혈액 및 성선 조직에서 Y염색체 모자이시즘의 진단

김진영 · 이상준 · 박기현1Y⁄±⌊ℑ⁄↵←1Y⁄≠⌊≈⌈↵⌋1Y⁄ℵ⊂≡×…→1Y⁄±⌊……±⁄1Y⁄
±⌊ℵ∈±™1Y⁄ℑ∂∝↵ℑƒ1Y⁄…⇔ℜ⌉∪≤1Y⁄±⌊ℵ|↵⌋1Y⁄ℵ⊂∪≤ℑ¬2

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 산부인과,
연세대학교 의과대학 산부인과학교실1 , 을지의과대학 생리학교실2

Detection of Y mosaicism in blood and gonad of patients with gonadal dysgenesis

Kim JY Y⁄Lee SJ Y⁄Park KH1 Y⁄Kim JY 1Y⁄Bai SW1Y⁄Lee BS1Y⁄Kim SK1Y⁄
Kim IK1 Y⁄Cho DJ 1Y⁄Song CH1 Y⁄Kim JW1 Y⁄Lee HJ2

Department of Obstetrics and Gynecology, Kangbook Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology1, Yonsei University School of Medicine, Department of Physiology2,
Eulji Medical College,
Seoul, Korea

running head : Detection of Y mosaicism in gonadal dysgenesis

corresponding address: 김 진영
성균관대학교 의과대학, 강북삼성병원, 산부인과
서울특별시 종로구 평동 108번지
우) 110-102
Tel: 02-2001-2194
Fax: 02-2001-2187
E-mail: jinyeongk@netscape.net

= abstract =

Objective: The presence of Y chromosome in patients with gonadal dysgenesis is related to the risk of gonadoblastoma. Since the patients with abnormal sexual differentiation may have cryptic Y mosaicism, it is important to detect the presence of Y material in these patients. But sometimes it is difficult to detect Y material only with karyotyping. This study was performed to evaluate the usefulness of the SRY gene screening in blood and gonad by using PCR in detecting the presence of Y material and possible tissue mosaicism in patients with gonadal dysgenesis as Turner syndrome and 46,XY pure gonadal dysgenesis (PGD, Swyer syndrome).

Method: In 26 patients with gonadal dysgenesis, we screened for Y material by using PCR for SRY gene in peripheral leukocytes and in gonadal tissues of some patients. They were 22 cases of Turner syndrome (7 45,XO, 2 46,Xi(Xq), 3 45,XO/46,XX, 5 45,XO/46,Xi(Xq), 1 45,XO/46,XY, 1 45,XO/46,Xi(Yq), 1 45,XO/47,XYY, 1 46,XX,del(X)(q24) and 1 46,X,+mar) and 4 cases of 46,XY pure gonadal dysgenesis. PCR for SRY gene in the gonadal tissue was performed in 5 Turner syndrome and 2 PGD to determine the cryptic Y mosaicism between blood and gonad.

Results: By using PCR analysis for SRY, Y chromosome material was detected in the blood of 4 of 22 Turner syndrome patients (45,XO/46,Xi(Xq), 45,XO/46,Xi(Yq), 45,XO/46,XY, and 45,XO/47,XYY), 3 of 4 46,XY pure gonadal dysgenesis. Discrepancy between karyotyping and blood PCR for SRY was noted in 1 Turner syndrome (45,XO/46,Xi(Xq))

and 1 PGD. Laparoscopic gonadectomy was performed in Y containing or SRY positive cases. In addition, PCR analysis for SRY in the gonads of 5 Turner syndrome and 2 PGD showed discrepancy between blood and gonad or between both gonads in 3 Turner syndrome (45,XO/46,Xi(Xq), 45,XO/46,Xi(Yq), 45,XO/46,XY) and 2 PGD patients.

Conclusion: In gonadal dysgenesis, PCR analysis for SRY gene is useful to detect the cryptic Y mosaicism that is sometimes undetected by karyotyping. And since there may be tissue mosaicism, it is necessary to evaluate Y mosaicism in various tissues even in the case without Y chromosome on karyotyping.

Key Words: Y-Mosaicism, Gonadal dysgenesis, SRY gene, PCR,

터너 증후군은 여성표현형에서 성선 이형성(gonadal dysgenesis)과 원발성 무월경, 성적 발육부전(sexual infantilism), 단신 및 다양한 선천성 기형을 갖는 염색체 이상으로 X 염색체 하나가 소실되어 발생하며, 46,XY 순수 성선 이형성(pure gonadal dysgenesis, Swyer syndrome)은 여성표현형에서 성선 선조(streak gonad)를 갖는 성분화 이상으로 남성화와 성선에서 발생하는 종양을 치료하는 것이 문제이다. 이러한 성선 이형성 환자에서는 모자이시즘(mosaicism)을 갖는 경우가 많고, 특히 이형성 성선(dysgenetic gonad)에 포함된 Y 염색체 또는 그 요소들은 성선아세포종(gonadoblastoma)의 위험성을 증가시키므로 Y염색체 요소의 존재를 진단하는 것은 중요하다.[1,2]

실제로 터너 증후군 환자의 40-60%만이 핵형 분석상 45,XO의 핵형을 보이며,[3] hidden Y chromosome 의 incidence도 3%로 보고되고 있으며,[4] 또한 46,XY 순수 성선 이형성에서도 Y염색체 표현은 조직에 따라 모자이시즘을 보이는 경우가 있다.[5] 그러나 핵형 분석만으로는 Y염색체 요소의 양이 적거나 구조적으로 비정상인 경우 그 존재가 진단되지 않는 경우가 있어, SRY 유전자 등의 Y 염색체내 특이서열을 이용한 Y요소의 검색은 성분화 이상 환자에 있어 Y 염색체 존재의 진단과 그에 따른 치료에 유용하다.[6] 모자이시즘은 한 zygote에서 핵형적으로 다른 세포군이 함께 존재하는 것으로 이의 진단은 검사하는 세포의 수와 조직의 유형 및 검사방법의 예민도에 따라 영향을 받는다.[7]

성선 이형성 환자에서 비정상적 X 염색체 양상은 다양하게 나타나, 핵형 분석상 Y 염색체가 발견되지 않았던 경우에서 Y염색체내 특이서열에 대한 polymerase chain reaction(PCR)이나 Southern blot 등 분자생물학적 방법을 통해 Y 염색체 요소가 발견되기도 하고,[8,9] Y 염색체가 혈액 내에서는 발견되지 않으면서 성선 조직 내에는 존재하여 모자이시즘을 나타내는 경우도 보고되고 있다.[10] 성의 결정, 즉 고환의 분화에는 Y 염색체가 필요하며, testis-determining factor(TDF)로서 sex-determining gene on Y(SRY)가 작용하는 것으로 알려져 있어,[11] 이 SRY gene 의 돌연변이나 분열중의 전이 등이 성분화 이상과 관련되는 것으로 생각되고 있다.

이에 저자들은 이형성 성선을 갖는 터너 증후군과 46,XY 순수 성선 이형성 환자들에서 염색체 핵형분석 및 Y 염색체내 SRY유전자의 특이 서열을 시발체로 이용한 PCR 기법을 통해 SRY 유전자 검색을 시행하여 핵형 분석에서 진단되지 않을 수 있는 Y 염색체 요소의 존재유무를 진단하여, 성선 이형성 환자의 진단 및 치료에 있어 PCR을 이용한 SRY 유전자 검출의 임상적 유용성을 알아보고, 또한 일부 예에서는 성선 조직에서 역시 PCR 기법을 이용한 SRY 유전자 검색을 시행하여, 혈액과 성선 조직에서의 SRY 검색결과를 비교함으로써 성선 조직에서 Y 염색체 요소 진단에 있어 PCR 기법의 진단적 유용성과 이러한 환자들에서 존재할 수 있는 조직간 모자이시즘을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

연구대상 및 방법

26예의 성선 이형성 환자를 대상으로 하였고 그들은 연세의료원 산부인과에서 추적 관찰 중이었다. 대상 환자는 터너 증후군 22예와 46,XY 순수성선 이형성 4예였으며, 터너 증후군 환자들의 핵형은 각각 45,XO 7예, 46,X,i(Xq) 2예, 45,XO/46,XX 3예, 45,XO/46,X,i(Xq) 5예와

45,XO/46,XY, 45,XO/46,X,i(Yq), 45,XO/47,XYY, 46,XX,del(X)(q24) 및 46,X,+mar가 각각 1예였다. 이들 환자의 말초혈액에서 핵형 분석 및 백혈구로부터 추출된 genomic DNA를 이용하여 SRY 유전자에 대한 PCR분석을 시행하였다. 또한 핵형분석상 Y염색체가 존재하거나 혈액내 SRY PCR 양성을 나타낸 터너 증후군 환자와 46,XY 순수 성선 이형성 환자에서 복강경을 이용하여 성선 제거술을 시행하였고, 46,X,+mar와 45,XO/46,XX 1예에서는 복강경으로 성선을 검사하여 이중 45,XO/46,XX에서 조직생검을 시행하고, 이를 포함하여 성선제거술을 시행한 4예와 함께 총 5예의 터너 증후군 및 혈액내 SRY PCR 양성 및 음성으로 나타났던 2예의 46,XY 순수성선 이형성 환자의 성선에서 PCR 기법을 이용한 SRY 유전자 검색을 시행하였다.

PCR

백혈구 및 5∞⌈m 두께로 절단된 성선 조직의 동결절편으로부터 genomic DNA를 추출하였으며,12 primer로는 SRY DNA sequence로부터 구성된 XES10, XES11을 사용하였고 이는778bp크기의 SRY유전자의 open reading frame(ORF)을 반영한다. 한편 ZP3 gene sequence가 X염색체를 나타내는 대조 marker로 이용되었다. 배지에는 500 ng의 genomic DNA, 0.5 ∞⌈M의 primer XES10, 0.5∞⌈M의 primer XES11, 200∞⌈M의 each nucleotide, 1.5 mM의 MgCl2, 10mM의 Tris(pH8.3), 50mM의 KCl, 0.01%의 gelatin과 1.5IU of Tag polymerase를 포함시켰으며, 반응은 94ϒ⊃↵ϒ…↑2분간 처리한 후(denaturation), 60ϒ⊃↵ϒ…↑1분30초(anealing), 71ϒ⊃↵ϒ…↑2분30초간(DNA synthesis)처리하고, 이 증폭과정을 35회 반복하여 20 ∞⌈l의 DNA을 얻었다. 증폭된 DNA는 50mM TRIS(pH8.0)로 처리한 후 primer의 5`-end를 절단하는 EcoR1으로 용해하였으며 용해된 DNA를 1.2% sea plaque agarose gel에서 전기영동하여 분리하였다.

* Primers for PCR amplification of SRY gene :

Sense XES10 5'-GAGCTCGAGAATTCGGTGTTGAGGGCGGAGAAATGC-3'

Antisense XES11 5'-GAGCTCGAGAATTCGTAGCCAATGTTACCCGATTGTC-3'

결 과

핵형분석 및 말초혈액과 성선 조직에서 PCR 을 이용한 SRY gene 검색결과는 Table 1. 과 같으며, SRY 유전자 서열을 PCR 기법을 이용하여 증폭한 결과 typical 778bp DNA fragment가 검색되었다(Fig.1). 말초 혈액에서 PCR기법을 이용한 SRY 유전자 검색 결과, 22예의 Turner 증후군 중 핵형분석상 45,XO/46,X,i(Xq), 45,XO/46,X,i(Yq), 45,XO/46,XY 및 45,XO/47,XYY로 진단되었던 4예에서 SRY PCR 양성으로 나타나 45,XO/46,X,i(Xq) 1예에서 핵형 분석 결과와 차이를 보였다(Table 1, Fig.1). 4예의 46,XY 순수 성선 이형성증에서는 3예에서 SRY양성이었고, 1예에서는 SRY 음성으로 나타나 1예에서 차이를 보였다.

또한 일부 5예의 Turner syndrome (45,XO/46,Xi(Xq), 45,XO/46,XX, 45,XO/46,Xi(Yq), 45,XO/46,XY, 45,XO/47,XYY) 및 2 예의 46,XY 순수성선 이형성 환자에서 성선제거술 또는 성선 조직 생검 후 성선 조직에서 시행한 SRY PCR 결과 45,XO/46,X,i(Xq), 45,XO/46,X,i(Yq), 45,XO/46,XY 3예의 Turner syndrome 과 2예의 46,XY 순수 성선 이형성에서 혈액과 성선조직간 SRY PCR 결과의 차이를 보였다. 혈액내 SRY PCR 결과 양성을 보였던 45XO/46,Xi(Xq)예에서 성선 조직에서는 SRY 음성이었고, 45,XO/46,Xi(Yq)와 45,XO/46,XY에서는 blood PCR 양성을 나타내면서 성선 조직에서는 한쪽에서 음성, 다른 한쪽은 양성으로 양측간의 차이를 보였으며, 45,XO/47,XYY에서는 혈액 및 양측 성선내 SRY 양성을 보였다. 혈액내 SRY 양성을 나타내었던 1예와 음성이었던 1예의 순수 성선 이형성에서도 성선 조직내 SRY PCR결과 한쪽에서는 양성, 다른 한쪽에서는 음성을 나타내어 양측 성선간 차이를 보이는 조직간 모자이시즘이 발견되었다(Fig.3).

고 찰

성선 이형성 환자에서 Y 모자이시즘이 존재하는 경우 성선아세포종(gonadoblastoma)의 발생 위험이 높아, Y 이수성의 성선 이형성 20-30%에서 성선 종양을 일으키므로 예방적 성선 제거술이 필요하다.1,2 터너 증후군은 이형성 성선을 나타내는 가장 흔한 염색체 이상으로, 약 50%정도만이 45,XO(mongoose X)를 나타내며 나머지는 모자이크(mosaic) 형태로 생각되고,3 이러한 경우 약 6%정도에서 Y염색체가 존재하며 3% 정도는 marker chromosome을 가지며 이는 Y염색체에서 유래된 것으로 알려져 있다.13,14 적은 양의 Y염색체 요소를 가지는 cryptic mosaicism이 일부환자에 존재할 수 있으므로 이들의 진단은 중요하며, 분자생물학적 방법으로 일부환자에서 이러한 Y염색체 요소의 존재가 진단되고 있어, NCR을 이용한 SRY유전자 검색 등으로 marker chromosome의 origin을 알아내고 인식되지 않은 Y염색체 요소의 존재를 진단할 수 있다.8,9 모든 터너 증후군에서 성선 제거술을 시행하지는 않기 때문에 핵형 분석만으로는 다른 세포계열에서 유래한 조직간 micromosaicism을 완전히 배제할 수가 없으며,15 Y 염색체요소의 양이 적게 포함되어 있는 경우 핵형분석만으로는 Y 염색체가 진단되지 않는 경우가 있고, 특히 남성화의 증상을 보이지 않는 경우 진단이 더욱 어렵다. 따라서 이러한 성선 이형성 환자에서 특징적 임상증상으로 진단이 되더라도 반드시 염색체 핵형 분석과 함께 분자생물학적 방법으로 Y 염색체의 존재여부를 확인하는 것이 진단 및 치료에 중요하다.

Y 염색체내에서 성의 결정, 즉, 고환의 분화를 결정하는 testicular determining factor(TDF)로서 SRY 유전자는 Y염색체의 단완 가성상염색체 부위(pseudoautosomal region)에 위치하며 target DNA에 결합하여 조절단백질의 상호작용을 조절함으로써 transcription factor로서의 역할을 한다고 알려져 있다.11,16 한편 SRY 유전자는 남성성분화의 억제 인자인 Z단백질을 억제하여 기능을 나타내어 SRY가 없거나 Z단백질 돌연변이가 있을 경우 SRY의 억제작용이 소실되어 남성으로 분화가 되지 않는다는 가설도 있으며,17 이외 남성 성분화의 여러 단계에 상염색체나 X-연관 유전자들이 관련된다고 제시되고 있는 바 WT1, SF-1 와 SOX9 등이 있다.18 Y 염색체의 특성을 나타내는 유전자로서 SRY유전자는 성결정에 중요한 역할을 하므로 비정상 성분화에서 기전을 이해하거나 Y 염색체 존재의 진단 및 그에 따른 치료에 유용하게 이용될 수 있다.6 Y 염색체 특이 서열로서 Y 특이 동원체 표지(Y specific centromere probe)나 SRY유전자, testis specific protein 유전자, DYZ repeat등이 많이 이용되며 이들에 대한 PCR 증폭 기법, southern blot 등의 분자생물학적 진단은 적은 양이나 구조적으로 변화된 Y 염색체 요소도 진단할 수 있으므로 매우 유용하며 그 민감도(sensitivity)도 높다.19,20 45,XO 핵형의 터너 증후군 환자 중 PCR이나 FISH기법을 통해 Y 염색체 요소가 발견되는 경우가 보고된 바 있고,21 본 연구에서도 22명의 Turner syndrome 환자 중 45,XO/46,Xi(Xq) 1예에서 핵형분석상 Y 염색체 및 남성화 증상은 없었으나, 혈액내 PCR 결과 SRY 양성으로 성선제거술을 시행했던 예가 있었다. 이러한 모자이시즘 환자에서 Y cell line의 양과 분포에 따라 표현형은 매우 다양히 나타나며,22 터너 증후군에서 PCR을 이용한 Y요소의 검색결과 피부조직, 림프구, 성선 조직마다 Y-derived marker의 분포가 다르게 나타나기도 한다.23 실제로 남성화의 과정은 고환의 분화와 그로부터 테스토스테론과 Mullerian inhibiting hormone의 분비로 이루어지며 성선이 고환으로 분화될 때 남성화가 나타나나, 터너 증후군에서는 Y 염색체가 존재해도 남성화가 없는 경우가 많은데, 이는 포함된 Y cell line 의 양과 분포의 차이 때문으로

생각된다.22 한편 SRY PCR 음성이면서도 남성화의 증상을 보이는 경우가 있고, Bisat등(1993)은 이러한 경우에서 혈액내 Y sequence에 대한 PCR은 음성이나 성선 조직은 dysgenetic testis로 Y 염색체요소가 PCR로 진단된 예를 보고하였고,13 Y 염색체가 핵형분석에서 발견되지 않았으나 피부조직에서는 발견된 경우도 있다.7

한편 이형성 성선에서 Y 염색체 요소의 존재는 성선 종양 발생의 위험을 증가시키는 것으로 알려져 있으나, SRY가 소실된 경우에도 성선 종양이 발생하는 경우가 있어,24 종양발생이 Y 연관유전자와 직접 관련된 것으로 보고 상염색체 열성 돌연변이나,18 아직 정확히 발견되지는 않았으나 Y centromere 근접부위로 생각되는 gonadoblastoma gene on Y (GBY)의 가능성이 제시된 바 있다.25,26 또한 SRY 양성인 Y 모자이시즘에서 Y centromere를 소실한 경우는 드문 것으로 보고되고 있으나,27,28 배아세포종의 발생위험과 관련된 유전자 검색에는 SRY와 함께 DYZ3등 Y centromere 부위 서열의 검색이 중요하다고 하였으며, 터너 증후군 환자에서 hidden Y mosaicism의 빈도는 매우 낮다고 보고되기도 한다.29 본 45,XO/46,Xi(Xq)예의 경우 혈액내 SRY 유전자는 양성이었으나 남성화를 나타내지 않았는데, 이러한 표현형의 차이는 포함된 SRY 유전자의 양에 따라 다를 수 있고, SRY 유전자, Z protein의 돌연변이나 상염색체, X연관 유전자등과의 관련성을 생각해 볼 수 있으며, 이 예의 성선 조직에서 시행한 SRY PCR 결과는 음성으로 모자이시즘을 나타내어 Y 모자이시즘이 존재하는 조직의 종류에 따라서 표현형에 차이를 보일 수 있을 것으로도 생각된다. 또한 이 경우 혈액 및 성선 조직에서 Y centromere probe등 다른 Y 염색체 특이서열의 존재에 대한 검색도 추가적으로 필요할 것으로 생각된다. 45,XO/46,XY 및 45,XO/47,Xi(Yq) 예에서도 남성화 증상을 보이면서 혈액내 SRY positive였으나, 성선에서는 양측 성선간 SRY PCR결과 한 쪽은 음성, 다른 한 쪽은 양성으로 차이를 나타내어, 여기서도 SRY gene은 한 개체 내에서도 조직 및 세포에 따라 다른 종류의 cell line에서 유래한 핵형을 가지는 조직간 모자이시즘(tissue mosaicism)이 있을 수 있음을 알 수 있다. 46,X,+mar 1예에서는 marker chromosome이 Y-origin이 많은 것으로 알려져 있어 SRY 음성이었으나 진단적 복강경을 시행하여 성선을 확인하고, 거의 확인할 수 없을 정도의 성선 선조를 보이고 남성화의 증상이 없어 성선제거술은 시행하지 않고 호르몬 치료를 하며 추적 관찰중이다.

46,XY 순수 성선 이형성증에서는 성선이 고환으로 분화하지 못하고 성선 선조를 나타내는데 이는 SRY 유전자의 소실, 전좌등이 원인적 역할을 하는 것으로 생각되고 있으나, SRY유전자는 정상양성 또는 음성인 경우도 있고,30 돌연변이는 약 15%에서만 존재한다고 보고되어 고환 분화과정에서 SRY보다 조기에 관여되는 유전자 및 상염색체 유전자 이상이 관련되는 것으로 알려지고 있다.22 Swyer증후군 환자의 가족에서도 SRY유전자의 검색 및 DNA분석 결과, 부친의 체세포에서는 정상 SRY을 나타내나 림프구와 정자에서는 SRY 유전자 돌연변이와 모자이시즘이 발견되어, 정자에서 나타나는 돌연변이가 자손에서 반복적으로 성역전(sex reversal)을 일으키는 경우가 보고되었으며,5 46,XX성역전 남성에서 혈액내 SRY PCR 음성이나 고환세포에서는 SRY 양성을 나타낸 예가 있다.31 본 예에서도 4예 중 3예에서만 혈액 내 SRY양성을 보였으며, 1예에서는 음성으로 나타났으며, 혈액내 SRY PCR 양성을 나타낸 1예와 음성이었던 1예의 순수성선 이형성 환자에서 복강경적 성선제거술 후 시행된 성선 조직내 PCR 결과 양측간에 양성 및 음성의 결과차이를 보여, 혈액내 음성인 경우에서도 성선 조직에서는 다른 세포계열에서 유래한 Y 모자이시즘이 존재할 수 있음이 관찰되었다. 본 연구에서는 이형성 성선을 보이는 터너 증후군과 순수성선 이형성 환자들에서 핵형분석과 함께 분자생물학적 방법으로 Y염색체 요소의 존재를 검색하여, 혈액과 성선간 및 양측 성선간에도 Y 모자이시즘의 존재가 발견되었으며, 모자이시즘이 존재하는 양과 조직의 종류에 따라 표현형에도 차이가 있을 수 있음을 알 수 있었다.

결론적으로, PCR을 이용한 혈액내 SRY유전자의 검색은 핵형 분석의 한계점을 보완하여 인식되지 않은 Y 염색체요소의 진단에 유용한 방법이며, 혈액내 SRY가 음성이라도 모자이시즘에 의해 한 개체 내에서도 여러 종류의 세포 군에 따라 조직간 차이를 보일 수 있으므로 PCR 이나 FISH 기법 등 분자생물학적 기법을 이용한 성선 조직내 SRY 검출 또한 정확한 진단에 유용하다. 이와 같이 비정상 성분화 환자의 진단 및 치료에 있어서

여러 조직에 따라 모자이시즘이 있을 수 있음을 고려하여 다양한 세포에서 정밀한 Y요소의 검색을 염두에 두어야 할 것으로 생각되며, 추후 이렇게 발견된 적은 부분의 Y 요소의 존재가 어느 정도 성선아세포종과 관련되는지 더 많은 예에서 추적관찰 및 GBY등 다른 Y 특이 서열에 대한 연구와 그를 이용한 Y 염색체 분석이 되어야 할 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Manuel M, Katayama KP, Jones HW. The age of occurrence of gonadal tumors in intersex patients with a Y chromosome. Am J Obstet Gynecol 1976;124:293-300.

2. Olsen MM, Caldamone AA, Jackson CL, Zinn A. Gonadoblastoma in infancy: indications for early gonadectomy in 46XY gonadal dysgenesis. J Pediatr Surg 1988;23:270-1.

3. Ranke MB, Pfluger H, Rosendahl W, Stubbe P, Enders H, Bierich JR, et al. Turner syndrome: spontaneous growth in 150 cases and review of the literature. Eur J Pediatr 1983;141:81-8.

4. Shah KD, Kaffe S, Gilbert F, Dolgin S, Gertner M. Unilateral microscopic gonadoblastoma in a prepubertal Turner mosaic with Y-chromosome material identified by restriction fragment analysis. Am J Clin Pathol 1988 Nov;90(5):622-7.

5. Hines RS, Hansen KA, Tho SP, Zhang YY, Plouffe L Jr., Hansen KA, et al. Paternal somatic and germ-line mosaicism for a sex-determining region on Y(SRY) missense mutation leading to recurrent 46,XY sex reversal. Fertil Steril 1997;67:675-9.

6. Hirasawa A, Tsujimoto G, Okuyama S, Li XK, IwayaM, Masaki Y, et al. Polymerase chain reaction of the rat sex-determining region of the Y-chromosome and its application to estimating a state of sensitization to minor histocompatibility antigen H-Y. Trans Proc 1995; 27(2):1598-600.

7. Held KR, Kerber S, Kaminsky E, Singh S, Goetz P, Seemanova E, et al. 1992. Mosaicism in 45,X Turner syndrome: does survival in early pregnancy depend on the presence of two sex chromosome? Hum Genet 88:28-94.

8. Gemm RM, Pearce-Birge L, Bixenman H, Hecht BK, Allanson JE. Y chromosome-specific DNA sequences in Turner-syndrome mosaic. Am J Hum Genet 1987;41:157-67.

9. Medlej R, Lobaccaro JM, Berta P, Belon C, Leheup B, Toublanc JE, et al. Screening for Y-derived sex determining gene SRY in 40 patients with Turner syndrome. J Clin Endocrinol Metab 1992;75:1289-92.

10. Bisat T, May K, Litwer S, Broecker B. Y chromosome mosaicism in the gonads, but not in the blood, of a girl with the Turner phenotype and virilized external genitalia. Clin Genet 1993;44:142-5.

11. Sinclair AH, Berta P, Palmer MS, Hawkins JR, Griffiths BL, Smith MJ, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature 1990;346:240-4.

12. Sambrook J, Fritsch EF, Naniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY,1989.

13. Nagafuchi S, Tamura T, Nakahori Y, Takano K, Nishi Y, Iwatani N, et al. The majority of the marker chromosomes in Japanese patients with stigmata of Turner syndrome are derived from Y chromosome. Hum Genet 1992;89:590-2.

14. Lindgren V, Chen C, Bryke CR, Lichter P, Page DC, Yang-Feng TL. Cytogenetic and molecular characterization of marker chromosomes in patients with mosaic 45,X karyotypes. Hum Genet 1992;88:393-8.
15. Bosze P, Magyar E, Toth A, Laslo J. 45,X streak gonad syndrome associated with bilateral 'burnt out' gonadoblastoma. Gynecol Obstet Invest 1989; 28:113-7.
16. Behlke MA, Bogan JS, Beer-Romero P, Page DC. Evidence that the SRY protein is encoded by a single exon on the human Y chromosome. Genomics 1993;17:736-9.
17. McElreavey K, Vilain E, Abbas N, Herskowitz I, Fellous M. A regulatory cascade hypothesis for mammalian sex determination: SRY represses a negative regulator of male development. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:3368-72.
18. Fechner PY. The role of SRY in mammalian sex determination. Acta Paediatrica Japonica 1996;38:380-9.
19. Muller U, Donlon T, Kunkel S, Lalande M, Latt SA. Y-190, a DNA probe for the sensitive detection of Y-derived marker chromosomes and mosaicism. Hum Genet 1987;75:109-13.
20. Kocova M, Siegel SF, Wenger SL, Lee PA, Trucco M. Detection of Y chromosome sequences in Turner's syndrome by Southern blot analysis of amplified DNA. Lancet 1993;342:140-3.
21. Patsalis PC, Sismani C, Hadjimarcou MI, Kitsiou-Tzeli S, Tzezou A, Hadjiathanasiou CF, et al. Detection and incidence of cryptic Y chromosome sequences in Turner syndrome patients. Clin Genet 1998;53:249-257.
22. Grumbach MM, Conte FE. Disorders of sexual differentiation. In:Wilson JD, Foster DW (eds): Williams' Textbook of Endocrinology, 8th ed. Philadelphia: Saunders; 1992:853-951.

23. Petrusevska R, Beudt U, Schafer D, Schneider M, Brude E, Leitner C, et al. Distribution of marker-Y chromosome containing cells in different tissues of a Tuner mosaic patient with mixed gonadal dysgenesis. Clin Genet 1996:49:261-6.
24. Barbosa AS, Ferraz-Costa TE, Semer M, Liberman B, Moreira-Filho CA. XY gonadal dysgenesis and gonadoblastoma : a study in two sisters with a cryptic deletion of the Y chromosome involving the SRY gene. Hum Genet 1995;95:63-6.
25. Page DC. Hypothesis: a Y-chromosomal gene causes gonadoblastoma in dysgenetic gonads. Development 1987;101:151-5.
26. Petrovic V,Nasioulas S, Chow CW, Voullaire L, Schmidt M, Dahl H. Minute Y chromosome derived marker in a child with gonadoblastoma: cytogenetic and DNA studies. J Med Genet 1992;29:542-46.
27. Vollrath D, Foote S, Hilton A, Brown LG, Beer-Romero P, Bogan JS, et al. The human Y chromosome: a 43-interval map based on naturally occurring deletions. Science 1992;258:52-9.
28. Page DC. Y chromosome sequences in Turner's syndrome and risk of gonadoblastoma or virilization. Lancet 1994;343:240.
29. Binder G, Koch A, Wajs E, Ranke MB. Nested polymerase chain reaction study of 53 cases with Turner syndrome: Is cytogenetically undetected Y mosaicism common? J Clin Endocrinol Metab 1995;80:3532-6.
30. Tsutsumi O, Iida Taku, Nakahori Y, Taketani Y. Analysis of the testis-determining gene SRY in patients with XY gonadal dysgenesis. Horm Res 1996;46:6-10.
31. Dardis A, Saraco N, Mendilaharzu H, Rivarola M, Belgorosky A. Report of an XX male with hypospadias and pubertal gynecomastia, SRY gene negative in blood leukocytes but sry gene positive in testicular cells. Horm Res 1997;47:85-8.

Table 1. Cytogenetic, molecular and FISH findings of intersex patients screened for SRY gene 45,XO

Case	Karyotype	Dx	Blood-PCR	Gonad	Gonad-PCR	
					Rt	Lt
1	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
2	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
3	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
4	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
5	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
6	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
7	45,XO	TS	ϒ♠	n/a		
8	46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
9	46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
10	45,XO/46,XX	TS	ϒ♠	streak	ϒ♠	ϒ♠
11	45,XO/46,XX	TS	ϒ♠	n/a		
12	45,XO/46,XX	TS	ϒ♠	n/a		
13	45,XO/46,Xi(Xq)	TS	≤↔′™	streak	ϒ♠*	ϒ♠*
14	45,XO/46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
15	45,XO/46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
16	45,XO/46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
17	45,XO/46,Xi(Xq)	TS	ϒ♠	n/a		
18	45,XO/46,XY	TS	≤↔	testis	≤↔*	ϒ♠*
19	45,XO/46,Xi(Yq)	TS	≤↔	streak	ϒ♠*	≤↔*
20	45,XO/47,XYY	TS	≤↔	ovotestis	≤↔	≤↔
21	46,XX,del(X)(q24)	TS	ϒ♠	n/a		
22	46,X,+mar	TS	ϒ♠	streak	n/a	n/a
23	46,XY	PGD	≤↔	streak	n/a	n/a
24	46,XY	PGD	≤↔	testis	ϒ♠*	≤↔*
25	46,XY	PGD	≤↔	streak	n/a	n/a
26	46,XY	PGD	ϒ♠′™	streak	≤↔*	ϒ♠*

TS: Turner syndrome, PGD: pure gonadal dysgenesis
n/a: not available, + : positive, ϒ♠: negative
′™: discrepancey between karyotyping and blood SRY
*: discrepancey between blood and both gonads

Fig. 1. Results of PCR amplification of SRY gene from peripheral leukocytes
M: Molecular weight marker
Lane 1: Turner syndrome-45,XO/46,X,i(Xq), SRY(+)
Lane 2: 46,XY pure gonadal dysgenesis-46,XY, SRY(+)
Lane 3: Turner syndrome-45,XO/46,X,i(Yq), SRY(+)
NM: normal male
NF: normal female
NC: normal control

M Pc Nc 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

′÷ SRY

′÷ ZP3

Fig. 2. PCR amplification in both sides of the gonads of patients with gonadal dysgenesis
Lane 1, 2 : 45,XO/46,Xi(Xq), Right, Left, (blood PCR(+))
Lane 3, 4 : 45,XO/46,XX, Right, Left, (blood PCR(-))
Lane 5, 6 : 46,XY(PGD), Left, Right, (blood PCR(+))

Lane 7, 8 : 45,XO/47,XYY, Right, Left, (blood PCR(+))
Lane 9, 10 : 46,XY(PGD), Right, Left, (blood PCR(-))
Lane 11, 12 : 45,XO/46,Xi(Yq), Right, Left, (blood PCR(+))
Lane 13, 14 : 45,XO/46,XY, Left, Right, (blood PCR(+))

= 국문 초록 =

목적: 성선 이형성 환자에서 Y 염색체의 존재는 성선아세포종의 위험성과 관련되어 있으며, 성분화 이상 환자에서는 숨겨진 Y 모자이시즘을 가지는 경우가 있기 때문에 이러한 환자들에서 Y 염색체 요소를 진단하는 것은 중요하다. 그러나 핵형분석만으로는 Y 염색체 요소를 발견하기 어려운 경우가 있다. 이에 저자들은 터너 증후군과 46,XY 순수 성선 이형성의 성선 이형성 환자들의 혈액 및 성선 조직에서 Y 염색체요소를 진단하는데 PCR기법을 이용한 SRY 유전자 검색의 유용성과 가능한 조직간 모자이시즘의 존재를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방법: 26예의 성선 이형성 환자에서 말초혈액과 일부 예의 성선 조직내에서 PCR을 이용한 SRY 유전자 검색을 하였다. 대상환자는 터너 증후군 22예(7 45,XO, 2 46,XiXq, 3 45,XO/46,XX, 5 45,XO/46,Xi(Xq), 1 45,XO/46,XY, 1 45,XO/46,Xi(Yq), 1 45,XO/47,XYY, 1 46,XX(delXq24), 1 46,X,+mar)와 46,XY 순수성선 이형성 4예였으며 이중 5예의 터너 증후군과 2예의 순수 성선 이형성에서 성선 조직내 SRY 유전자에 대한 PCR분석을 시행하였다.

결과: SRY 유전자에 대한 PCR 분석결과 22예의 터너 증후군중 4예에서 Y 염색체 요소가 발견되었으며(45,XO/46,Xi(Xq), 45,XO/46,XY, 45,XO/46,Xi(Yq), 45,XO/47,XYY), 4예의 순수성선 이형성 중 3예에서 SRY 유전자 양성으로 나타나, 1예의 45,XO/46,Xi(Xq) 터너 증후군과 1예의 순수 성선 이형성에서 핵형분석과 혈액내 SRY PCR 결과간에 차이를 보였다. Y 염색체가 진단되거나 SRY PCR결과 양성인 경우에서 복강경을 이용한 성선제거술을 시행하였다. 또한 일부 5예의 터너 증후군과 2예의 순수 성선 이형성환자의 성선 조직에서 SRY유전자에 대한 PCR 결과 3예의 터너 증후군과(45,XO/46,Xi(Xq), 45,XO/46,XY, 45,XO/46,Xi(Yq)) 2예의 순수 성선 이형성에서 혈액내와 성선 조직 또는 양측 성선 조직간 차이를 나타내었다.

결론: 성선 이형성 환자에서 PCR 기법을 이용한 SRY 유전자 검색은 핵형분석만으로는 진단되지 않을 수 있는 숨겨진 Y 모자이시즘을 진단하는데 유용하며, 이러한 환자들에서 조직간 모자이시즘이 있을 수 있으므로 핵형분석상 Y 염색체가 진단되지 않은 경우에도 다양한 세포내에서 Y 염색체 요소의 존재를 검사하는 것이 필요하다.